

## 筋、末梢神経の採取、保存および送付の手順

2014.2.17

本研究にご協力頂くに当たり、病理解剖では以下の作業をお願いすることになります。

- (1) 剖検になったことの連絡
- (2) 9カ所の神経・筋組織の採取
- (3) 採取した組織の凍結、および固定
- (4) 検体の送付

以下では、この手順について記述します。

### (1) 剖検になったことの連絡

本研究の criteria を満たした患者が剖検になりましたら、その時点で、みなと赤十字病院集中治療部 畠山 ([s-hatakeyama.icu@yokohama.jrc.or.jp](mailto:s-hatakeyama.icu@yokohama.jrc.or.jp)) と武居 ([takei.icu@yokohama.jrc.or.jp](mailto:takei.icu@yokohama.jrc.or.jp)) に連絡をいただければと思います。

### (2) 神経・筋組織の採取

本研究に供する材料のうち、以下の筋組織は病理解剖の通常の手順によって問題なく採取できると思われるので、その採取手順は省略します；

胸鎖乳突筋、横隔膜、腸腰筋

これ以外の神経・筋組織の採取は、各施設で定まった方法がある場合にはそれに沿って行って頂いてかまいませんが、もし定まった方法がない、あるいは過去に採取したことがないというような場合には、以下を目安に採取を行って頂ければと思います。

#### 1. 顔面神経

顔面神経は耳下腺内を走行するので、限られた解剖時間内においては、耳下腺を取り出した後に神経を剖出するのが現実的であると思われます。

解剖の最初の皮膚切開を左頸部から胸部に向かって行う方法の場合は、その皮切線を耳介の基部に向かって5cmほど上方に延長すると皮下に耳下腺を認めることができます。最初の皮膚切開を左右の肩にかけて行う方法の場合には、これとは別に耳介下端から5cm程度の皮切を行って耳下腺に到達します。

耳下腺を皮膚、深部結合組織から剥離して丸ごと取り出します。取り出し後、耳下腺の浅葉と深葉を割って顔面神経を見だし、これを採取します。

採取の際、耳下腺組織が神経周囲に多少残存するのは差し支えないと思われます。

## 2. 横隔神経

横隔神経は開胸後、肺や心臓などの臓器の取り出しにかかる前に、まず最初に採取する必要があります。これらの臓器を取り出した後では横隔神経は損傷していることが多いし、また神経の発見も困難になるからです。

開胸して肺門部を観察すると、肺門の前方を上下方向に走る太い神経を容易に見いだすことが出来ます。これが横隔神経ですので、周囲組織から遊離後、3cm 程度を切り取って採取します。

左右ともに採取し、左右の別を区別して保存します。

## 3. 第3腰椎の後根神経節

まず腰椎周囲の腸腰筋を骨から完全に剥離・除去し、腰椎の椎体と椎弓根の境界が触知できる状態にします。この境界部にストライカーの歯を当て、ストライカー本体をできるだけ垂直に立てて腰椎に沿って動かし、椎弓根を左右ともに切断します。この状態で椎弓を持ち上げると脊柱管に到達します。

仙骨から逆に数えて第3腰椎および第4腰椎の椎弓根を同定します。この椎弓根の間に入っている軟部組織が第3腰椎の後根神経節ですので、できるだけ傷をつけないように骨から剥離して採取します。

## 4. 坐骨神経

解剖の通常の手順に従って大腿骨髄、および大腿動静脈の採取を終わらせます。

その後内側広筋を主とする、大腿骨の内側に付着する筋を大腿骨に沿って剥離し、大腿骨の真後ろに解剖を進めると、坐骨神経の走行する疎な結合組織の部分に到達します。坐骨神経は直径が2cm ほどもあるので、他の血管などからは容易に見分けがつかます。これを周囲から剥離し、3cm 程度を採取します。

## 5. 前脛骨筋

前脛骨筋は通常解剖の手順ではまず触れることがない部分ですので、ここだけはどうしても別に皮切を置いて採取する必要があります。

脛骨前面（ベンケイの泣き所）の外側に前脛骨筋を触知して同定し、この筋腹の中央部に縦に5cm 程度皮切を入れ、筋を3cm 程度採取します。

## 6. 腓腹神経

腓腹神経の採取は、神経内科などで行われる神経生検と同一の手順になりますので、その方面の成書を参考にするのも良いかと思われます。

外顆の後上方に縦に3-5cm 程度の皮切を入れ、皮下組織を分け入っていくと、長・短

腓骨筋腱をはじめとする太い腱が出てきますので、これを左右に分けながらその下の軟部組織に到達します。腓腹神経はここを縦に走行しますが、これに平行して小伏在静脈などの目立つ血管もありますので、注意深くこれらを見極めて神経を3cmほど採取します。迷った場合には血管なども一緒に採取しておき、採取後に区別しても良いと思われます。

### (3) 採取した組織の凍結、および固定

採取した組織は、以下の3通りの方法でそれぞれ処理して頂く必要があります；

#### ① 凍結

凍結手順は、通常術中迅速診断を行う際の凍結手順と同様とお考え下さい。あらかじめ、神経や筋の名称が書かれている容器（Tissue-Tek Cryomold）を配布致しますので、その容器に検体を入れ、凍結支持材（O.C.T. コンパウンドなど）に埋めた後、液体窒素中で急速凍結します。

凍結した検体は、合計9個まとめてA5版のBARRIA POUCHに入れ封をし、可能であれば-80℃のフリーザー中で、もしなければ-20℃あるいは-30℃で送付まで保管します（検体送付の際、どのような温度条件で保存したかを付記下さい）。

#### ② ホルマリン固定

採取した組織を、神経組織は1cm長程度、筋組織は5mm角程度の大きさにして10%中性緩衝ホルマリン液中にて固定します。組織を固定液に投入した後は、原則として4℃で保存して下さい。もし止むを得ず常温で固定した場合には、送付の際その旨お知らせ下さい。

固定用の容器（神経や筋の名称が書かれたもの）はあらかじめ各施設に配布致します。固定液だけは、各施設のものをご使用下さい。

#### ③ 2.5%グルタルアルデヒド固定

採取した神経、筋ともに最大でも1mmの大きさに細切して2.5%グルタルアルデヒド液中で固定します。組織を固定液に投入した後は、原則として4℃で保存して下さい。もし止むを得ず常温で固定した場合には、送付の際その旨お知らせ下さい。

2.5%グルタルアルデヒド固定液については、保存管理が困難であるため、各施設において、25%グルタルアルデヒド（原液）から2.5%グルタルアルデヒド固定液を作成していただきます。事前に、25%グルタルアルデヒド液（原液）を0.6ml入れたもの、250mlのプラスチック容器に入った磷酸緩衝液、固定用の小瓶（神経や筋の名称が書かれたもの）を郵送致します。25%グルタルアルデヒド液（原液）は、施設到着後、-20℃で凍結保存し、検体を採取する前に解凍して下さい。また、磷酸緩衝液は、施設到着後、4℃で保存して下さい。検体を採取したら、固定用の小瓶に解凍した25%グルタルアルデヒド液（原

液) 0.6ml と 燐酸緩衝液を 5.4ml 入れ 10 倍希釈して 2.5%グルタルアルデヒド固定液 (合計 6 ml) を作成していただきます。

なお、これら①~③の検体処理作業は、解剖終了後に検査室で行うことになるかと思われます。この際、採取された組織を解剖終了まで一旦置いておく時間が必要となりますが、その間に組織が乾燥したりしないように注意して下さい。シャーレ (神経や筋の名称が書かれたもの) を配布しますので、そのシャーレの上に生食で浸したガーゼを置き、その上に検体を置いていただき、乾燥しない様に管理して下さい。また検体処理作業は、解剖終了後可能な範囲で速やかにお願ひ致します。

#### (4) 検体の送付

検体は (上記①~③) は、その種類により次の方法で送付下さい。

##### ① 凍結検体

あらかじめ、施設には A5 版の BARRIA POUCH と B4 版の BARRIA POUCH というビニール袋を送付致します。検体が採取された連絡が入り次第、みなと赤十字病院より日通に連絡を取り、施設に検体を取りに伺わせてます。先生方には、日通が来る直前に、検体が入っている A5 版の BARRIA POUCH を-80℃のフリーザーから取り出し、B4 版の BARRIA POUCH に入れて封をして下さい (2 重にする)。その後、検体を取りに来た日通業者が持参した定温マルチボックスに B4 版の BARRIA POUCH を入れて下さい (3 重にする)。以降は、日通が郵送してくれます。

##### ② ホルマリン固定、および ③ 2.5%グルタルアルデヒド固定検体

検体が採取された連絡が入り次第、みなと赤十字病院より日通に連絡を取り、施設に検体を取りに伺わせてます。日通が到着する前までに、先生方に以下の点をお願ひ致します。

あらかじめ、B4 版の BARRIA POUCH と吸水シートを送付致します。ホルマリン固定容器と 2.5%グルタルアルデヒド固定容器、それぞれに対して容器の周りを吸水シートで覆い、テープにて吸水シートがはがれない様にして下さい (万が一、液体がこぼれても大丈夫なようにするためです)。吸水シートは 1 枚を 4 分割していただき、それをそれぞれの容器を覆っていただきます。合計 18 個の容器を覆いましたら、B4 版の BARRIA POUCH に入れて封をして下さい。その後、検体を取りに来た日通業者が持参した段ボール箱に検体入りの B4 版の BARRIA POUCH を入れていただき、余分なスペースには新聞紙を入れて下さい。以降は、日通が郵送してくれます。

なお①~③いずれについても、費用に関しては、日通と事前に調整しているため、先生方の施設で負担する必要はございません。

**【参考】**

神経・筋の凍結標本作製に当たっては、これらの組織を専門的に研究する施設からは、上記の方法とは異なる、特別の配慮や準備を要する方法が示されています（下記参考文献参照）。

しかし、このためには特別の器具や試薬を必要としたり、また凍結作業に手間を要することから、通常的病理解剖業務を行う中でこうした方法をとることは現実的でないと考えられます。したがって、本研究における検体採取と保存に当たっては、上記のような、通常業務に準ずる形の手順を呈示することに致しました。

文献：埜中征哉 『臨床のための筋病理』第4版. P.4~6.  
日本医事新報社、2011